

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

**Defective images within this document are accurate representation of
The original documents submitted by the applicant.**

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORLED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

12 **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

21 Anmeldenummer: 82104288.4

22 Anmeldetag: 15.05.82

51 Int. CL³: C 08 J 9/26, C 08 J 9/28,
C 12 N 11/00, B 01 J 20/00,
C 07 C 103/52, A 61 K 37/48,
A 61 K 47/00
// C 08 F 2/22

30 Priorität: 05.08.81 DE 3130924

34 Veröffentlichungstag der Anmeldung: 18.02.83
Patentblatt 83/7

64 Benannte Vertragsstaaten: AT CH FR GB IT LI NL SE

71 Anmelder: Röhm GmbH, Kirschenallee Postfach 4242,
D-6100 Darmstadt 1 (DE)

72 Erfinder: Siol, Werner, Dr., Mühlenbergstrasse 4,
D-6102 Pfungstadt (DE)
Erfinder: Krämer, Dieter, Dr., An der Favorite 4,
D-6600 Mainz (DE)
Erfinder: Söthlein, Norbert, Dr., Am Horeth 23,
D-6106 Ober-Ramstadt (DE)
Erfinder: Fell, Cornelia, Rheinstrasse 36,
D-6106 Erzhäusen (DE)
Erfinder: Markert, Gerhard, Dr., Leipziger Strasse 25,
D-6106 Ober-Ramstadt (DE)
Erfinder: Schuster, Erwin, Dr., Darmstädter Strasse 237,
D-6140 Bensheim 3 (DE)

84 Oberflächenreiche Systeme zur Fixierung von nucleophilen Gruppen enthaltenden Substraten.

87 Die Erfindung betrifft oberflächenreiche Systeme mit reaktiven Einheiten zur Fixierung von nucleophilen Gruppen enthaltenden Substraten, wobei die reaktiven Einheiten Bestandteile eines Polymerisates sind, der selbst zu einem oberflächenreichen System aggregiert und/oder an einem oberflächenreichen Trägermaterial fixiert ist, und deren Verwendung.

EP 0 071 704 A2

Oberflächenreiche Systeme zur Fixierung von
nucleophile Gruppen enthaltenden Substraten

- 5 Die Erfindung betrifft oberflächenreiche Systeme
zur Fixierung von nucleophile Gruppen enthaltenden
Substraten, insbesondere zur Immobilisierung von
biologisch relevanten, d.h. primär zur Wechselwirkung
mit biologischen Systemen befähigten Substanzen und
10 funktionalen Einheiten, vorzugsweise biologischen
Ursprungs.
- Die Immobilisierung von Bio(makro)molekülen an Träger-
molekülen ist eines der am intensivsten bearbeiteten
Themen sowohl im Bereich der reinen Forschung als auch
im Bereich der Biotechnologie.
- 15 Unter dem speziellen Aspekt der Immobilisierung von
Enzymen kann man die vorgeschlagenen bzw. praktizierten
Fixierungstechniken wie folgt unterscheiden:
- 20 1) Kovalente Bindung an eine feste Trägerphase
(solid phase)
 - 2) Kovalente Bindung an lösliche Polymere
 - 25 3) Physikalische Adsorption an eine feste
Trägerphase

- 4) Vernetzung an festen Oberflächen
- 5) Vernetzung mit bifunktionellen Reagentien
- 5 6) Einschluß in einer Gelphase
- 7) Einkapselung

(Vgl. R.D. Fall in "Enzyme Engineering" Vol. II, ed.
10 E.K. Pyl & L.B. Wingard, Plenum Press. 1974, US-PS
3 650 900 Melrose, Rev. Pure and Appl. Chem. 21, 83-119
(1971).

Am eingehendsten wurde bisher die unter 1) genannte
15 Technik der kovalenten Bindung an eine feste Träger-
phase bearbeitet.

Die einschlägige Literatur läßt jedoch keinen Zweifel
an der Tatsache, daß die vielfältigen Aufgaben, die man
mit Hilfe der Fixierung von Bio-Makromolekülen zu lösen
hoffte, wie z.B. Reinigung, Trennung und Bindung von
20 Enzymen, Fixierung von Mikroorganismen, Affinitätschroma-
tographie, Immunreaktionen, Aufgaben der klinischen Dia-
gnostik usw. nicht mit einer einzigen Methodik gelöst
werden können. Auch in Fällen, wo auf spezifische Probleme
zugeschnittene Lösungen vorliegen, z.B. bei der Immobili-
25 sierung bestimmter Enzyme an bestimmten Trägern, stößt die
Übertragung vom Labormaßstab in den technischen Maßstab oft
auf schwer zu überwindende Hindernisse.

Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, zu Lösungen zu
30 kommen, die die Bedürfnisse der Technik besser befriedigen.

Die japanische Offenlegungsschrift 77 143 821 beschreibt die Immobilisierung von Enzymen oder Mikroben durch ein Verfahren, in dem aus einer wäßrigen Polymerdispersion und einem Enzym auf einer Glasplatte ein Film hergestellt wird.

5 Die Anwendung geschieht in Form einer, gegebenenfalls zerkleinerten Folie.

Die Lösungen des Standes der Technik weisen schwerwiegende Nachteile auf. In der Regel ist die Oberflächenkonzentration der fixierten, biologisch wirksamen Substanzen zu gering. Die reaktiven Oberflächen können auch nicht beliebig durch Zerkleinern der polymeren Träger erhöht werden, da kleine Teilchen die Tendenz zur Instabilität besitzen und vielfach nicht mehr technisch sinnvoll einzusetzen sind. Zwar ist es bekannt (siehe oben), makromolekulare Verbindungen
10 durch Adsorption an Träger zu binden, jedoch ist deren Verwendbarkeit beschränkt, da sie sich leicht wieder eluieren lassen.

In der DE-OS 21 12 740 wird ein Durchflußreaktor beschrieben, der einen makroporigen Reaktionskern, dessen polymere Oberfläche adsorptionsfördernde Nitril-, Säureamid- bzw. Ureidgruppen aufweist.

Nach erfolgter physikalischer Adsorption der Enzyme an der festen Trägerphase wird eine Vernetzung z.B. mittels eines Dialdehyds vorgenommen.

25 Aus der DE-OS 22 60 184 ist ein Verfahren zur Herstellung von trägerfixierten makromolekularen Verbindungen bekannt, bei dem eine makromolekulare Verbindung A zuerst mit einer Verbindung B umgesetzt wird,
30 die wenigstens eine zur Kupplung mit der makromolekularen

Verbindung A befähigte Funktion und wenigstens eine weitere zur Polymerisation befähigte Funktion aufweist, dann ein Molekularsiebmaterial eines die makromolekulare Verbindung A ausschließenden Vernetzungsgrads in ent-
5 quollenem Zustand zugesetzt und die polymerisationsfähige Gruppe des Kupplungsprodukts AB im Molekularsiebmaterial gegebenenfalls zusammen mit weiteren Monomeren polymerisiert wird.

10 Es wurde nun gefunden, daß oberflächenreiche Systeme mit reaktiven Einheiten zur Bindung von nucleophile Gruppen enthaltenden Substraten besonders vorteilhafte Lösungen darstellen, wenn die reaktiven Einheiten zur Bindung der die nucleophilen Gruppen enthaltenden Substrate Bestandteile
15 eines Polymerlatex sind, der selbst zu einem oberflächenreichen System aggregiert und/oder an einem oberflächenreichen Trägermaterial fixiert ist.
Es wurde weiter gefunden, daß sich zur kovalenten Immobilisierung von biologisch relevanten Substanzen und
20 funktionalen Einheiten Polymerlatices gemäß den Patentansprüchen besonders eignen.

Der Polymerlatex:

Bei der Synthese der erfindungsgemäßen Polymerlatices ist
25 von bestimmendem Einfluß die beabsichtigte Verwendung bei der Herstellung reaktiver oberflächenreicher Gebilde. Der Polymerlatex kann daher von unterschiedlichem Aufbau sein, abhängig davon, ob der Latex zur Erzeugung eines dünnen, reaktiven Films auf einem an sich oberflächenreichen Gebilde
30 verwendet werden soll, oder ob der Latex durch einen locker

agglomerierten Aufbau die Gesamtoberfläche des gebildeten Systems gegenüber der Oberfläche des Trägermaterials noch erheblich vergrößern soll. Falls die Erzeugung eines dünnen, reaktiven Films auf dem Trägermaterial angestrebt wird, kann
5 der Latex bei einer Temperatur oberhalb der minimalen Filmbildungstemperatur (MFT = DIN 53787) auf den Träger aufgebracht werden. Soll der Latex hingegen die Oberfläche des Trägermaterials noch vergrößern, so sind insbesondere kleine, (beispielsweise im Bereich von 0,03 bis 3 μm) in sich starre
10 Latex-Teilchen, die unter den Anwendungsbedingungen nicht verfilmen, von Vorteil. Gegebenenfalls können die nicht-filmbildenden Latexteilchen durch Zusatz von untergeordneten Mengen - vorzugsweise bis zu 30 Gew.-% - eines filmbildenden Latex miteinander und mit dem Träger verbunden werden.

15

Substrate:

Die erfindungsgemäßen, oberflächenreichen Systeme sind allgemein zur Fixierung von Substraten geeignet, die nucleophile
20 Gruppen aufweisen. Sie eignen sich besonders zur Fixierung von funktional und/oder morphologisch definierten, biologisch relevanten, insbesondere biologisch wirksamen Einheiten oder Substanzen.

25 Bei den biologisch relevanten Substanzen und funktionalen Einheiten, die in der Regel zur Wechselwirkung mit biologischen Systemen befähigt sind, handelt es sich vorzugsweise um solche biologischen Ursprungs, die gegebenenfalls gegenüber der nativen Form modifiziert sein können.

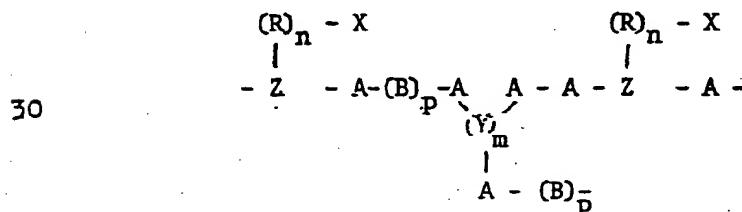
30 Eine besonders wichtige Rolle spielen dabei Makromoleküle, insbesondere Proteine.

Reaktive Einheiten / nucleophile Gruppen:

Im allgemeinen besitzen die zur Wechselwirkung mit biologischen Systemen befähigten Substanzen bzw. Strukturen ihrerseits kopplungsfähige Gruppen, die mit den (reaktiven Einheiten der Polymerlatices) reagieren und eine kovalente Bindung eingehen können; in der Regel sind dies nucleophile Gruppen. Vorzugsweise finden solche an sich bekannten reaktiven Einheiten (funktionellen Gruppen) Anwendung, die in wäßriger Lösung mit stärkeren Nucleophilen als Wasser reagieren und vom Wasser in dem physiologisch sinnvollen pH-Bereich, d.h. insbesondere im Bereich von 5,0 bis 9,0, insbesondere von 6,5 bis 8,0 nicht oder nur in untergeordnetem Maße angegriffen werden. Die Auswahl der funktionellen Gruppen trägt der Tatsache Rechnung, daß das zu fixierende Material, insbesondere das Material biologischen Ursprungs als nucleophile Gruppe im allgemeinen die (freie) Aminogruppe, daneben gegebenenfalls noch phenolische-, Hydroxy- oder Thiolgruppen aufweist. Die erfindungsgemäßen Polymerlatices können ganz allgemein aus radikalisch polymerisierbaren Vinylverbindungen hergestellt werden:

Vorzugsweise aus Monomeren auf der Basis von Acrylsäure- und/oder Methacrylsäurederivaten und/oder Styrol und/oder Vinylestern, insbesondere Vinylacetat.

Der Aufbau des erfindungsgemäßen Polymerlatex in seiner reaktiven Form kann daher in stark schematisierter Form wie folgt dargestellt werden:



wobei X für die funktionellen Gruppen zur kovalenten Fixierung steht, vorzugsweise solchen, die die vorstehend genannten Bedingungen erfüllen. R stellt dabei einen "Abstandshalter" (Spacer) zwischen funktionellen und polymerisierbaren Einheiten dar. Größe und Typ des Abstandshalters sind vergleichsweise unkritisch. Typische Vertreter von derartigen Abstandshaltern sind beispielsweise Alkylengruppen von C_1 bis C_{20} , vorzugsweise C_2 bis C_{12} ,^{*} darüber hinaus andere ursprünglich (d.h. vor dem Einbau) bifunktionelle Gruppen enthaltende Einheiten, wobei sowohl am polymerständigen als am funktionalen Ende eine Verknüpfung über Amid-, Ester-, Äther-, Thioäther-, Harnstoff-, Urethan-, Sulfonamid- und ähnliche Gruppen erfolgen kann. Im allgemeinen bringt der Abstandshalter eine Distanz der funktionellen Gruppen X von der Polymerhauptkette im Bereich von 0,5 - 4 nm. In einer Reihe von Beispielen kann die Gruppe R ganz fehlen, d.h. n kann den Wert 0 oder 1 besitzen.

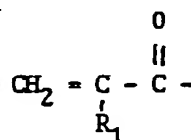
X hat in der Regel die Bedeutung einer von den in Frage kommenden Nucleophilen angreifbaren Gruppe, d.h. einer aktivierten Gruppe; vorzugsweise die Bedeutung einer Sulfonsäurehalogenid-, einer Thioisocyanatgruppe, eines aktivierten Esters, einer Thiocarbonyldioxy-, Carbonyl-imidoyldioxy-, Haloethoxy-, Haloacetox-, Oxiran-, Aziridin-, Formyl-, Keto-, Acryloyl- oder Anhydridgruppe.

Als Sulfonsäurehalogenide kommen die Chloride und Bromide, als Haloacetox die Fluoro-, Chloro- und Bromoverbindungen, als Esterkomponente der aktivierten Ester solche von Hydroxylaminverbindungen, wie des N-Hydroxysuccinimids oder des N-Hydroxyphthalimids, von (mittels elektronenanziehenden Gruppen) aktivierten Phenolen, wie von Halogenphenolen, wie Trichlorphenol oder von Nitrophenolen, von heterocyclischen Lactamen, wie Pyridon infrage.

* wobei gegebenenfalls Kohlenstoffatome durch Ätherbrücken ersetzt sein können.

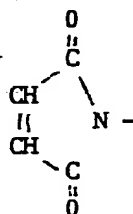
Besonders bevorzugt sind Oxiran-, Keto-, Formyl-, Sulfonsäurechlorid-, Thioisocyanatgruppen sowie aktivierte Carbonsäureester sowie Carbonsäureanhydride. Bei den Monomeren des Typs $Z'-(R)_n-X$ stellt demnach Z' eine (radikalisch) polymerisationsfähige Einheit und n 0 oder 1 dar.

Solche radikalisch polymerisationsfähige Einheiten sind z.B. Vinylgruppen, wobei Z' beispielsweise die Bedeutung



besitzt, worin R_1 für Wasserstoff oder Methyl bzw. für $\text{CH}_2 - \text{COOR}_2$, $\text{CH}_2 - \text{CONHR}_2$ oder $\text{CH}_2 - \text{CON}(\text{R}_2)_2$ steht, wobei R_2 einen Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen bedeutet.

Desweiteren kann Z' sich von der Maleinsäure ableiten:

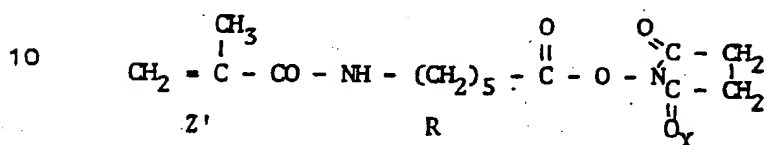


Als reaktionsfähige und zugleich polymerisierbare Einheiten sind ferner Maleinsäureanhydrid und Itaconsäureanhydrid anzusprechen sowie Acrolein, Meth-

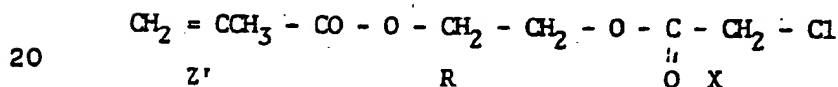
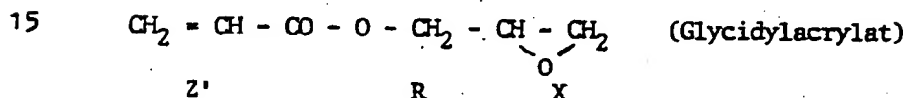
acrolein, Methylvinylketon und aktivierte Vinyl-
ester. Besonders bevorzugt sind Derivate der (Meth)-
acrylsäure und des Maleinimids sowie Maleinsäure und
Itaconsäureanhydrid.

5

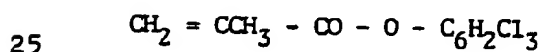
Zur Verdeutlichung des Formelschemas $Z'-R-X$ seien
die folgenden Beispiele aufgeführt:



(Polymerisierbarer aktivierter Ester mit Spacer)



(2-(Chloroacetoxy)-äthylmethacrylat)

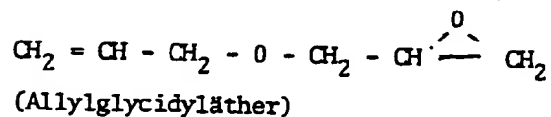


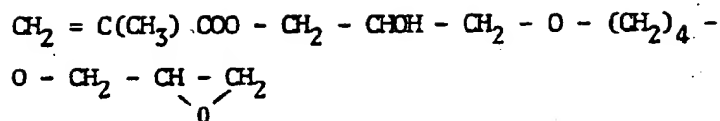
(2,4,5-Trichlorphenylmethacrylat) $R = 0$



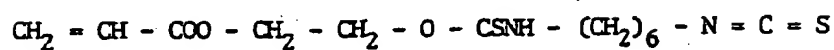
30

(2-Bromäthylmethacrylat)

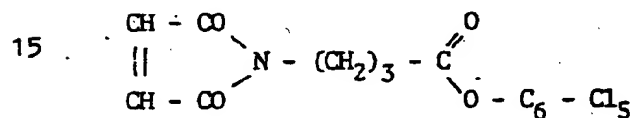
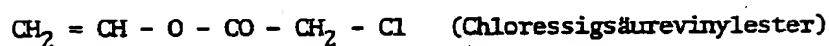




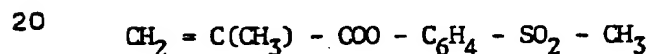
5 (Anlagerungsprodukt von Methacrylsäure an 1,4-Butandioldiglycidylether)



10 (Anlagerungsprodukt von Acrylsäure-2-Hydroxyethylester an 1,6-Hexandiisothiocyant)



(4-Maleimido-buttersäure-pentachlorphenylester)



((4-Methylsulfinylphenyl)-methacrylat)



(Propargylacrylat)

30

Bei den übrigen, am Aufbau der Polymerlatices beteiligten Einheiten (A und B in der schematischen Darstellung), handelt es sich definitionsgemäß um solche, die dem Latex die zu fordernden Eigenschaften, nämlich ggf. die Hydrophilie und die zweckmäßige Härte verleihen. Als Anhalt für die erwünschte Härte im wasserfreien Zustand kann gelten

T_{2max} -60 bis 200°C, insbesondere -20 bis 140°C (nach DIN 53445).

Andererseits sollten die am Aufbau des Polymerlatex beteiligten Monomeren selbst zweckmäßigerweise keine stark nucleophilen Gruppen (wie z.B. $-NH_2$, $-SH$) enthalten. Weiter können die Bestandteile des Polymerlatex vernetzt sein. Für diese Vernetzung steht Y als Symbol.

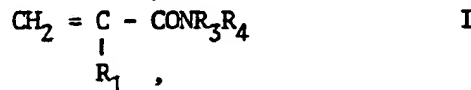
Die Härte bzw. die sonstigen relevanten Eigenschaften der Polymerisate aus den individuellen Monomeren ist bekannt, desgleichen der Beitrag zu den Eigenschaften von Copolymerisaten [vgl. US-PS 2 795 564, H. Rauch-Puntigam, T. Völker in "Acryl- und Methacrylverbindungen", Springer-Verlag, Berlin 1967, S.303-304, T.G. Fox Bull.Am.Phys.Soc. 1, 123 (1956)].

Im Sinne der schematischen Darstellung seien die in erster Linie für den nicht-hydrophoben bzw. hydrophilen Charakter des Polymerlatex verantwortlichen Bestandteile als B, weitere Bestandteile, deren Auswahl in erster Linie auf die resultierende Härte des Gesamtpolymerisats abgestimmt werden muß, als A bezeichnet, d.h. die Monomeren des Typs A gehören im Sinne der getroffenen Unterscheidung dem nicht-hydrophilen bzw. hydrophoben Typ an.

Der Index p für den monomeren Bestandteil B in dem vorstehend angegebenen Formelschema dient zur Klarstellung des

Sachverhalts, daß die primär für die zweckmäßige Härte des Gesamtpolymerisats einzusetzenden Monomeren A anteil-
mäßig auf die Komponente B abzustimmen ist, so daß p einen
Wert von 0 bis zu einem Wert annehmen kann, der einem An-
5 teil von B am Gesamtpolymerisat von 95 Gew.-%* entspricht.
Die für den erfindungsgemäß zu verwendenden Polymerlatex
genannten Bedingungen werden z.B. durch Copolymerisate
vom Methacrylat- und/oder Acrylattyp erfüllt, wobei der
qualitative und der quantitative Anteil so zu bemessen
10 ist, daß die im Anspruch aufgestellten Kriterien für
den Polymerlatex erfüllt sind.

Als nicht hydrophobe bzw. hydrophile Bestandteile B
kommen z.B. gegebenenfalls substituierte Methacryl-
15 amide und Acrylamide der allgemeinen Formel I

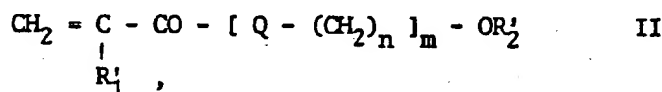


20 worin R₁ Wasserstoff oder Methyl und R₃ und R₄ unab-
hängig voneinander Wasserstoff oder einen Alkylrest mit
1 bis 4 Kohlenstoffatomen bedeuten, also unsubstituierte
Amide sowie die mit primären und sekundären Aminen gebil-
deten Amide sowie Verbindungen, bei denen R₃ und R₄ zu-
25 sammen mit dem Stickstoffatom einen, gegebenenfalls ein
oder mehrere zusätzliche Heteroatome, insbesondere Stick-
stoff oder Sauerstoff enthaltenden, gegebenenfalls alkyl-
substituierten Ring bilden, infrage. Besonders genannt
seien (Meth)-acrylsäureamid, N-Methyl- (bzw. Isopropyl-
30 oder -Butyl)-(meth)-acrylsäureamid, N,N-Dimethyl-(meth)-

* ,vorzugsweise 0 - 60 Gew.-%,

acrylsäureamid, desweiteren (Meth)acrylsäuremorpholid
(Sonderfall, in dem der Stickstoff über R_3 und R_4 Teil
eines Rings ist) und N-Vinylpyrrolidon-2.

Ferner hydroxygruppenhaltige Monomere des Acrylat- oder
des Methacrylaltyps, insbesondere hydroxygruppenhaltige
Ester oder Amide der Acryl- und der Methacrylsäure sowie
Alkoxyalkylester- und/oder Amide der Acryl- und der Meth-
acrylsäure zu den hydrophilen Monomeren des Typs B, z.B.
Vertreter der allgemeinen Formel II



worin R'_1 Wasserstoff oder Methyl, R'_2 Wasserstoff oder eine
Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, Q Sauerstoff oder
eine Gruppe $-\text{NR}'_2$, worin R'_2 für Wasserstoff oder eine Alkyl-
gruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen steht, n eine ganze Zahl
von 1 bis 3, vorzugsweise 2, und m eine ganze Zahl von 1 bis
25 bedeutet, mit der Maßgabe, daß, wenn Q für Sauerstoff steht,
n nicht gleich 1 sein soll. Besonders genannt sei das Hydroxy-
äthylacrylat, Hydroxyäthylmethacrylat, 2-Hydroxyäthyl(meth)-
acrylamid, 2-Hydroxypropyl(meth)acrylamid, Monoester der (Meth)-
acrylsäure des Glycerins und anderer Polyole.

Weiter fallen unter den Monomerentyp B Sulfoäthylacrylate
und Sulfoäthylmethacrylate sowie Sulfoäthylacrylamide
und Sulfoäthylmethacrylamide. Ebenfalls als hydrophile Gruppen
in die Schale des Latex eingebaut werden können polymerisierbare
Säuren, wie (Meth)acrylsäure, Itaconsäure oder Maleinsäure
oder polymerisierbare tert. Amine, wie 2-N,N-Dimethylamino-
äthyl-(meth)acrylamid bzw. -(meth)acrylsäureester oder 3-N,N-

* gehören

Dimethylaminopropyl-(meth)acrylamid bzw. -ester.

Zur Vermeidung einer einseitigen Aufladung der Latexteilchen sollten diese sauren bzw. basischen Gruppen stets gleichzeitig in einem Teilchen vorhanden sein (z.B. Methacrylsäure und 2-N,N-Dimethylaminoäthyl-(methacrylat).

Als Monomere des Typs A kommen nicht oder höchstens begrenzt wasserlösliche Monomere in Frage, wobei der qualitative und der quantitative Anteil so zu bemessen ist, daß das nachstehend aufgeführte Kriterium der Härte des resultierenden Polymerisats erfüllt wird:

a) Ester der Acryl- und/oder der Methacrylsäure, mit C_1 - C_{20} -Alkoholen, insbesondere der Methyl-, Äthyl- sowie die Propyl- und Butylester der Methacrylsäure, sowie der Methyl-, Äthyl-, die Propyl- und Butylester und 2-Äthylhexylester der Acrylsäure,

b) copolymerisierbare Monomeren vom Typ der Vinylester, insbesondere Vinylacetat, Vinylpropionat, Vinylbutyrat und Vinylisobutyrat.

Der Anteil der Komponente A am Gesamtpolymerisat kann, weil in Abstimmung mit den übrigen Bestandteilen, innerhalb relativ weiter Grenzen schwanken, beispielsweise von 0 bis 99 Gew.-%, vorzugsweise 20 bis 99 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtpolymerisat.

- Neben den oben beschriebenen Monomerkomponenten können die erfindungsgemäßen Polymerlatices noch vernetzende Monomere enthalten (Y in der schematischen Darstellung, wobei der Index m Null oder eins sein kann; d.h. der Vernetzer kann fehlen).
- 5 Unter "vernetzenden Monomeren" werden wie üblich z.B. solche Monomere verstanden, die zwei oder mehrere reaktive Doppelbindungen im Molekül enthalten, wie z.B. mit der Acrylsäure oder vorzugsweise der Methacrylsäure veresterte Di- oder
- 10 Polyole sowie Allylverbindungen, wie z.B. Allylmethacrylat, Triallylcyanurat u.a.
- Genannt seien z.B. Ethylenglykoldimethacrylat, 1,4-Butandiol dimethacrylat, Triglykoldimethacrylat, Trimethylolpropantrimethacrylat.
- 15 Der Anteil an Vernetzer - falls vorhanden - richtet sich nach der Hydrophilie des Gesamtpolymerisats. Mit zunehmender Hydrophilie des Latexteilchens kann auch ein zunehmender Anteil an Vernetzer als vorteilhaft erscheinen.
- Er beträgt im allgemeinen zwischen 0 und 50 Gew.-%, vorzugsweise zwischen 0,2 und 15 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtpolymerisat.
- 20 Der Anteil der funktionellen Monomeren am Gesamtpolymerisat kann - in Abhängigkeit von den konkret verwendeten Monomeren - in weiten Grenzen schwanken. Während z.B. zur kovalenten
- 25 Fixierung des nucleophile Gruppen tragenden Substrats wenigstens 0,1 % des Monomeren Z'-R-X erforderlich ist, ist der Maximalgehalt dieses Monomeren sehr stark von dem eingesetzten Monomeren selbst abhängig. Für den Fall, daß das reaktive Monomere selbst eine gewisse Hydrophilie aufweist, bzw. unter den
- 30 Herstellungsbedingungen der Polymerdispersion zu einem gewissen Maße zu einer hydrophilen Verbindung hydrolysiert,

so kann der Anteil dieses Monomeren Z-R-X bis zu 99,9 Gew.-% betragen (z.B. im Falle des Glycidyl-methacrylates, Rest = 0,1 % = Vernetzer, z.B. Butandiol-1,4-dimethacrylat).

- 5 Als Anhalt für die untere Grenze kann somit 0,1 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtpolymerisat, angesehen werden, als Anhalt für die obere Grenze 99,9 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 50 Gew.-%.

Herstellung der Polymer-Latices

10

- Die Herstellung der Latex-Dispersionen kann nach den bekannten Regeln der Emulsionspolymerisation erfolgen, beispielsweise in Anlehnung an DE-OS 18 04 159, DE-OS 19 10 488 und DE-OS 19 10 532, wobei die gewünschte Größe der Latex-Teilchen durch die Emulgatorkonzentration zu Beginn der Polymerisation eingestellt wird. Im allgemeinen liegt die Emulgatorkonzentration zu Beginn der Emulsionspolymerisation zwischen 0,005 und 0,5 Gew.-%, bezogen auf den gesamten Polymerisationsansatz. Die Größe der Latex-Teilchen soll zwischen 0,03 und 6 μ liegen, vorzugsweise zwischen 0,03 und 1 μ . Als Emulgatoren können die bekannten anionischen und nichtionischen Emulgatoren verwendet werden, beispielsweise Fettalkoholsulfate und -sulfonate, -phosphate und phosphonate, Alkalisalze langkettiger Fettsäuren, langkettige Sarkoside sowie oxäthylierte Fettalkohole, substituierte Phenole, die zum Teil sulfiert sein können sowie andere in der Emulsionspolymerisation verwendete Emulgatoren (Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Bd. XIV/I, S. 133-560, G. Thieme-Verlag, 1961).

- 25
30 Die Verwendung kationischer Tenside empfiehlt sich nur insoweit als sich diese von tertiären oder quartären Ammoniumsalzen ableiten. Desweiteren können auch einpolymerisierbare Emulgatoren verwendet werden.

Als Initiatoren können ebenfalls die allgemein bei Emulsionspolymerisationen üblichen verwendet werden (vgl. J. Brandrup, E.H. Immergut, "Polymer Handbook", second Edition, J. Wiley & Sons; H. Rauch-Puntigam, Th. Völker, "Acryl- und Methacrylverbindungen", Springer-Verlag 1967). Genannt seien Peroxide, Hydroperoxide, Persäuren und Azoverbindungen, z.B. Kaliumperoxidisulfat, Wasserstoffperoxid u.a.m.

5 Die Konzentration der Initiatoren liegt in der Regel im üblichen Bereich, beispielsweise bei 0,01 bis 1,0 Gew.-%, bezogen auf die Monomeren. Der Feststoffgehalt der Dispersion kann je nach Teilchengröße und Hydrophilie der Teilchen zwischen 10 und 60 Gew.-% liegen.

15 Die Synthese der Latex-Teilchen muß so schonend durchgeführt werden, daß die genannten funktionalen Gruppierungen aus den Monomeren Z'-R-X weitgehend erhalten bleiben, weil nur so eine nachfolgende kovalente Fixierung von Molekülen mit >NH-, -SH- und -COOH-Gruppen möglich ist.

20 Dabei ist anzumerken, daß der Erhalt der funktionalen nucleophil angreifbaren Gruppen aus den Monomeren Z'-R-X in bzw. an der Oberfläche der Latex-Teilchen um so schwieriger ist, je hydrophiler der Aufbau der Latex-Teilchen ist.

25 Dies soll am folgenden Beispiel belegt werden:

Bei völlig übereinstimmender Herstellung (Synthesetemperatur: 80°C, pH: 7,0, 4 Std. Polymerisationsdauer (Emulsionszulauf). (Zugabe des reaktiven Monomeren Glycidylmethacrylat jeweils nur in der 4. Stunde des insgesamt 4 Std. dauernden Zulaufs), 1 Std. Nacherhitzen bei 80°C findet man den folgenden Oxirangruppengehalt in der Dispersion:

	Bruttozusammensetzung des Polymeren	Oxirangruppengehalt im Latex *)
	42,5 % Methylmethacrylat	
	42,5 % Isobutylmethacrylat	
15	5 % Ethylenglykoldimethacrylat	71 %
	10 % Glycidylmethacrylat	
	40 % Methylmethacrylat	
	40 % Isobutylmethacrylat	
20	5 % Ethylenglykoldimethacrylat	15 %
	10 % Glycidylmethacrylat	
	5 % Methacrylamid	

*) bezogen auf das eingesetzte Glycidylmethacrylat.

25

30

Für eine schonende Herstellung der Latex-Teilchen sind die folgenden Punkte maßgeblich:

- 5 1.) Herstellung der Dispersion in einem pH-Bereich, in dem die Reaktionsgeschwindigkeit des Wassers mit den reaktiven Gruppen am geringsten ist (in der Regel ist dies ein pH von etwa 7).
- 10 2.) Herstellung bei möglichst niedriger Temperatur.
- 3.) Möglichst kurze Polymerisationsdauer.
- 15 4.) Abwesenheit von starken Nucleophilen im Latex-Teilchen.

20 Zu 1.) Die Synthese der Latex-Teilchen im neutralen pH-Bereich ist am einfachsten durch eine Pufferung des Systems (z.B. mit Phosphat-Puffer) möglich. Gegebenenfalls kann auf eine Pufferung durch Salzzusatz völlig verzichtet werden, z.B. wenn andere Teile der Rezeptur als Puffersubstanzen wirken können, so z.B. bei Verwendung von Alkalisalzen langkettiger Phosphorsäureester als Emulgatoren oder bei Einsatz des Natriumsalzes der 4,4'-Azobis(cyanovaleriansäure).

25

30

Zu 2. und 3.)

5 Punkt 2 und 3 beinhalten eine möglichst geringe thermische Belastung der reaktiven Gruppen tragenden Latex-Teilchen. Dabei gilt jedoch folgende Einschränkung: Da vor allem der Gehalt an reaktiven Gruppen auf der Latexoberfläche von Bedeutung ist, ist es durchaus möglich nur die äußere Hülle des Latex-Teilchen unter Zuhilfenahme der oben genannten reaktiven Gruppen herzustellen. So ist z.B. ein Kern-Schale-Aufbau anwendbar, wobei der Latex-Kern
10 völlig frei von reaktiven Monomeren hergestellt wird, dann gelten naturgemäß die Einschränkungen für eine schonende Latex-Herstellung nur für die Schale.

15 Die Polymerisation wird entweder bei niedrigen Temperaturen (z.B. $< 50^{\circ}\text{C}$) mit Hilfe eines Redox-systems durchgeführt (wobei jedoch darauf zu achten ist, daß Teile des Redox-Systems die reaktiven Gruppen nicht zerstören, z.B. Bisulfit die Oxirangruppen)
20 oder aber mit thermisch zerfallenden Initiatoren oder mit Hilfe eines Redox-Systems bei Temperaturen bis zu 90°C . Die Polymerisationsdauer sollte 8 Std. nicht überschreiten.

25 Zu 4.) Da der Latex reaktive Gruppen enthält, die eine kovalente Fixierung von $>\text{NH-}$, $-\text{SH-}$, oder $-\text{OH-}$ Gruppen haltigen Molekülen ermöglichen soll, ist die Anwesenheit von solchen Gruppen im Latex nur in untergeordnetem Maße möglich. Dies gilt insbesondere für
30 die $>\text{NH-}$ und die $-\text{SH-}$ Gruppen. Die Anwesenheit von OH- Gruppen im Latex ist weniger kritisch.

Herstellung der oberflächenreichen Gebilde

Die erfindungsgemäßen Polymerlatices werden bevorzugt auf geeignete Träger aufgebracht.

- 5 In erster Linie eignen sich inerte (im allgemeinen nicht-wasserlösliche) Träger, insbesondere feste Träger, vorzugsweise mit möglichst großer Oberfläche. Unter praktischen Gesichtspunkten bieten sich insbesondere poröse Körper als Träger an, z.B. auch geschäumte Materialien, Schwämme, weiter Faserstrukturen, Vliese usw. Geeignet
10 sind sowohl anorganische als organische Trägermaterialien.

- Genannt seien beispielsweise Träger auf Siliciumdioxid- bzw. Silikatbasis, insbesondere auch feinverteiltes
15 Siliciumdioxid, z.B. in Form von Gelen bzw. als Aerosil[®], ferner Träger auf der Basis von Aluminiumoxid und/oder anderen Metalloxiden und auf Basis von Tonen, wie z.B. Füllerden, Bleicherden usw. und Keramik. Ferner fein verteilte anorganische Pigmente, wie Titandioxid, Baryt,
20 ferner Kreide, Talkum, Gips, Bimsstein, Glas, Aktivkohle, rostfreier Stahl usw. Außerdem geeignet erscheint z.B. ein wabenförmig aufgebautes Material auf Cordierit-Basis ($\text{Mg}_2\text{Al}_4\text{Si}_5\text{O}_{18}$).

- Als Träger organischer Herkunft bieten sich sowohl (modifizierte) Naturprodukte als auch synthetische Materialien
25 polymerer Natur an. Aus dem Bereich der Naturprodukte sind insbesondere Fasereiweißstrukturen, wie z.B. Wolle und solche auf Kohlehydratbasis (Cellulose, z.B. Zellstoff, Stärke, insbesondere vernetzte Dextrane, usw.) zu nennen.
30 Ebenso eignen sich Materialien auf der Basis synthetischer Polymerer, wie z.B. Polyamide, Polyester, Polyurethan,

Polyacrylnitril, Polyimidschäumen.

Die genannten Stoffe bieten besonders interessante Aspekte, wenn sie als Flächengebilde, wie z.B. Vliese, Watten oder (nicht geleimtes) Papier oder entsprechende dreidimensionale makroporöse Körper zur Anwendung kommen.

Die oben beschriebenen, reaktiven Latex-Teilchen können in an sich bekannter Weise durch Tränken, Sprühen oder andere Techniken auf oberflächenreiche Gebilde, wie z.B. Papier, Watte, Vlies u.v.a. auch anorganische Trägermaterialien aufgebracht werden.

Dabei kommen zwei verschiedene Bindungsmechanismen zur Anwendung:

α.) Der Latex ist bei der Auftragungstemperatur filmbildend

In diesem Falle wählt man eine Latexmasse, die kleiner ist als die Masse des Trägermaterials (fest/fest), um die Gesamtoberfläche des Trägermaterials nicht zu verkleinern.

β.) Der Latex ist bei der Auftrags- und/oder der Anwendungstemperatur nicht filmbildend

In diesem Fall kann je nach Oberflächenbeschaffenheit des Trägermaterials das Verhältnis Latex (Festschubstanz) : Trägerschubstanz von 1 : 100 bis 100 : 1 reichen.

Gegebenenfalls kann in diesem Falle auf einen festen

- Träger völlig verzichtet werden. Dazu ist es erforderlich den Latex durch Sprühtrocknung, Gefriertrocknung oder durch Ausfällen (z.B. durch Natriumsulfat) bzw. durch weitere Methoden, wie
- 5 Koagulation infolge von Hitzeeinwirkung, Ausfrieren, Einwirkung von Lösungsmitteln, zu agglomerieren, so daß eine möglichst große innere Oberfläche erhalten bleibt.
- 10 Sofern die Verbindung der einzelnen Latex-Teilchen untereinander nicht durch Filmbildung erfolgt, kann ihre Verknüpfung untereinander bzw. zum Träger durch kovalente Bindungen geschehen. Im Falle der Oxirangruppen enthaltenden Latex-Teilchen kann diese Bindung z.B. durch Reaktion des
- 15 Oxiranrings mit den OH-Gruppen benachbarter Latex-Teilchen bzw. mit OH-Gruppen des Trägermaterials erfolgen. Gegebenenfalls kann diese kovalente Verknüpfung der Latex-Teilchen durch den Einsatz von multifunktionellen Nucleophilen, z.B. Polyaminen, verstärkt werden. Die
- 20 Fixierung der Latexteilchen auf den Träger oder zueinander kann jedoch auch über Nebenvalenzbindungen oder durch Verkitten mit untergeordneten Mengen einer weichen, filmbildenden Substanz, z.B. mit Latexteilchen niedrigerer Glas-
- 25 temperatur erfolgen. Diese weichen Latexteilchen können ebenfalls funktionelle Gruppen enthalten. Eine besonders bevorzugte Ausführungsform besteht darin, zum Ausfällen die funktional und/oder morphologisch definierten biologisch wirksamen Einheiten selbst einzusetzen, z.B. kann man ein zu bindendes Protein, z.B. ein Enzym,
- 30 selbst als multifunktionellen Vernetzer einsetzen. Dieses Verfahren ist vor allem bei besonders kleinen Latex-Teilchen anwendbar.

Der Einsatz der oberflächenreichen Gebilde als Katalysatoren (z.B. nach Fixierung von Enzymen) erfolgt je nach Art des vorgegebenen Trägermaterials (z.B. im Festbett). Der Einsatz der sprühgetrockneten bzw. mit Salz oder in Gegenwart von Enzymen ausgefällten Dispersionen erfolgt vorzugsweise im Batch oder im Fließbett. Der hohen Porosität und sehr hohen katalytischen Aktivität dieser Materialien steht eine nur geringe mechanische Festigkeit gegenüber. Für den Fall, daß das zu bindende, nucleophile Gruppen enthaltende Substrat nicht bereits bei der Agglomeration der Latex-Teilchen anwesend war, erfolgt die Umsetzung dieser Substrate mit den oberflächenreichen, reaktiven Gebilden unter den üblichen Bedingungen (z.B. Bindung des Enzyms Trypsin an einen oxiran-gruppenhaltigen Träger in einem unimolaren Phosphatpuffer (pH 7,5) in 72h bei 23°C). Als Substrate können allgemein funktional und/oder morphologisch definierte, biologisch wirksame Einheiten oder Substanzen dienen. Genannt seien z.B. Proteine allgemein, insbesondere Enzyme, Blutbestandteile und Blutinhaltsstoffe (Blutfaktoren), z.B. Albumine, Immunglobuline, Faktoren der Blutgerinnung, Zellmembranproteine, Peptidhormone u.ä. Weiterhin seien erwähnt hochmolekulare, biogene Substrate, die gegebenenfalls durch Farbstoffe markiert sein können, z.B. zur Anwendung in der Diagnostik. Neben dem Einsatz als Katalysator ist vor allem auch ein Einsatz in der (Affinitäts)-Chromatographie und allgemein im Bereich der Diagnostik möglich. Bei dem Einsatz - z.B. als Diagnosepapier - kann es von Vorteil sein, einen - (z.B. pH- oder Redox-sensitiven) Farbstoff physikalisch oder kovalent mit einzulagern. Damit kann z.B. bei gleichzeitiger Anwesenheit eines Substrats der

entsprechende Reaktionspartner, z.B. ein Enzym, durch eine Farbänderung nachgewiesen werden.

Zum Zwecke der Diagnose kann der reaktive Latex auf Papierstreifen oder Teststäbchen aus beliebigem Trägermaterial aufgebracht werden.

Die mit dem Reagenz (z.B. einem Enzymsubstrat und gegebenenfalls zusätzlich mit einem Farbstoff) umgesetzten Teststreifen oder Teststäbchen sind dann im trockenen Zustand unter Einhaltung bestimmter Temperaturbedingungen beliebig lagerfähig.

Der eigentliche Test kann zu gegebener Zeit durch einfaches Eintauchen des Teststreifens oder Stäbchens in ein den Reaktionspartner (z.B. ein Enzym) enthaltendes Medium (z.B. Urin, Blutserum etc.) erfolgen. Neben diesen spezifischen Diagnoseanwendungen kann das oberflächenreiche System ganz generell als bioaffiner Indikator Verwendung finden. Bei einer Verwendung als Katalysator, z.B. als Biokatalysator, können die reaktiven Latices in zwei prinzipiell verschiedenen Versionen zum Einsatz kommen.

Bei Anwendung im Festbett wird der Latex im allgemeinen an eines der oben beschriebenen Trägermaterialien fixiert. Die Umsetzung mit dem Katalysator kann vor oder nach dieser Fixierung stattfinden. Am interessantesten sind wegen ihrer hohen Spezifität und Selektivität Enzyme (es können aber auch einfacher aufgebaute und unspezifisch wirkende Gruppen (z.B. quartäre Ammoniumverbindungen oder Imidazol u.a. Heterocyclen zur Katalyse einer Hydrolyse) zur Anwendung kommen).

Die erfindungsgemäßen reaktiven oberflächenreichen Gebilde sind zur Immobilisierung aller Klassen von Enzymen geeignet, beispielsweise zur Fixierung von Oxidoreduktasen, Transferasen, Hydrolasen, Lyasen, Isomerasen und Ligasen.

5

Im Falle einer Verwendung im Fließbett sind neben zerkleinerten, auch für das Festbett geeigneten Träger-Katalysator-Kombinationen in erster Linie trägerfreie Latexaggregate einsetzbar, die als Pulver, Aufschlammung oder in einer anderen grobdispersen Form zur Anwendung kommen können. Die Umsetzung mit dem Enzymsubstrat kann am Original-latex selbst oder nach dessen Agglomeration erfolgen. Im übrigen sind dieselben Katalysatoren einsetzbar wie sie weiter oben im Falle der Festbettkatalyse beschrieben worden sind.

10

15

Falls für eine chemische Reaktion mehrere Enzyme in das Reaktionsgeschehen eingreifen müssen, besteht häufig das Problem, daß diese Enzyme nicht nebeneinander existenzfähig sind. Im Falle der kovalenten Bindung an die beanspruchten Trägermaterialien lassen sich solche Unverträglichkeiten häufig herabsetzen oder ganz ausschließen. So ist es bei dem erfindungsgemäßen Verfahren durchaus möglich zwei oder mehrere, verschiedene Enzyme zu fixieren. Es kann aber auch vorteilhaft sein, Enzymkombinationen direkt im Zellverband zur Anwendung zu bringen, d.h. ganze Mikroorganismen zu immobilisieren. Dies kann besonders vorteilhaft mit den beanspruchten, reaktiven Latices geschehen. Durch Menge und Teilchengröße der Latices ist die Substratzugänglichkeit eines solchen Systems besonders gut zu steuern.

20

25

30

* So eignen sich die erfindungsgemäßen, oberflächenreichen Systeme zur Fixierung von therapeutisch verwendbaren Enzymen, die z.B. oral angewendet werden können (z.B. Proteasen und/oder Lipasen und/oder Amylasen).

Auf diese Weise können demzufolge auch noch höhermolekulare Substrate umgesetzt werden.

Für eine solche Einbettung oder Fixierung kommen besonders in Frage:

- 1.) Viren, prokariotische und eukariotische Zellen und deren Untereinheiten, (siehe 2.), sowie Zellhybride, wie sie z.B. zur Herstellung von monoclonalen Antikörpern benutzt werden.
- 2.) Außerdem eignen sich die erfindungsgemäßen reaktiven oberflächenreichen Gebilde zur Immobilisierung von Zellorganellen, insbesondere Mitochondrien, Mikrosomen, Membranteilen, Zellkernen und deren Untereinheiten.

Die Anwendung der erfindungsgemäßen Latex-Trägerkombinationen in der (Affinitäts)chromatographie erfolgt völlig analog wie bei der Katalysatoranwendung beschrieben. Lediglich, die an den reaktiven Latex zu bindenden reaktiven Moleküle sind auf den spezifischen Verwendungszweck ausgerichtet. Eine Anwendungsmöglichkeit der oberflächenreichen Systeme gemäß der vorliegenden Erfindung ist die Anwendung als bioaffines Sorbens.

Dabei können durchaus Überschneidungen auftreten, etwa in der Art, daß ein gebundenes Enzym, das als Katalysator eingesetzt werden kann, Anwendung findet in der chromatographischen Reinigung eines Enzyminhibitors.

Eine besonders interessante Einsatzmöglichkeit bieten die Träger bei der Beseitigung von Spuren toxischer Stoffe (z.B. Blutwäsche, Wasseraufbereitung etc.).

Es kann aber auch das reaktive oberflächenreiche System eingesetzt werden. In diesem Falle ist die Entfernung von nucleophilen Verunreinigungen aus wässrigem Medium möglich, z.B. die Entfernung von toxischen Aminen, Mercaptanen und anderen Schadstoffen aus wässrigen Medien. Darüber hinaus kann das erfindungsgemäße, oberflächenreiche System mit multifunktionellen Substanzen umgesetzt werden, die mindestens eine nucleophile Gruppe (zur Fixierung am Latex) und mindestens eine weitere funktionelle Gruppe aufweisen, die zur spezifischen Wechselwirkung mit in wässrigem Medium befindlichen Substanzen oder funktionellen Einheiten geeignet ist. Gruppen mit der genannten spezifischen Wechselwirkung können beispielsweise Komplexbildner sein; genannt sei z.B. das Umsetzungsprodukt der Aminodiessigsäure mit einem oxiranhaltigen Latex u.ä.

Weitere Einsatzmöglichkeiten der erfindungsgemäßen reaktiven oberflächenreichen Systeme liegen in der Anwendung als stationäre Phase in der präparativen organischen Chemie. So kann z.B. ein auf diese Weise erhaltener S-S-Brückenhaltiger Latex als schonendes Oxidationsmittel verwendet werden, wobei die Entfernung des entstehenden Mercaptans entfällt.

Von ganz besonderem Interesse ist die Anwendung als stationäre Phase in der präparativen Peptidsynthese. Dabei kann einerseits das zu synthetisierende Peptid

an dem oberflächenreichen System aufgebaut werden,
es kann aber auch das oberflächenreiche System aktivierte
Reaktionspartner, z.B. Kupplungsaktive Aminosäuren oder
Kupplungsagentien, z.B. nur schwer in Lösung überzuführende
5 Carbodiimide aufnehmen. Im letzten Falle bleibt das aufzu-
bauende Peptid in der wäßrigen Phase gelöst.

Prinzipiell sind für chromatographische Zwecke sowohl
die an feste Träger gebundene Latex-Wirkstoff-Kombination
als auch die lose aggregierte Latex-Wirkstoff-Kombination
10 (Säule) einsetzbar.

Die nachstehenden Beispiele stellen eine Auswahl zur
Erläuterung des erfindungsgemäßen Immobilisierungsprinzips
dar.

15

20

25

30

Beispiel 1Herstellung einer oxirangruppenhaltigen Dispersion

- 5 In einem Polymerisationsgefäß, ausgestattet mit Rück-
flußkühler, Rührer und Thermostat wird eine Lösung
aus

	10	g	Phosphatpufferlösung pH 7,0 (Titrisol, Merck)
10	0,4	g	Natriumsalz der 4,4'-Azobis-(4-cyano- valeriansäure)
	0,3	g	Natriumlaurylsulfat
	555	g	destilliertem Wasser vorgelegt

- 15 und auf 80°C erwärmt.
In diese Vorlage tropft man ebenfalls bei 80°C inner-
halb von 4 Stunden eine Emulsion, hergestellt aus:

	360	g	Methylmethacrylat
20	210	g	Butylacrylat
	30	g	Glycidylmethacrylat
	2	g	Natriumsalz der 4,4'-Azobis-(4-cyano- valeriansäure)
	3	g	Natriumlaurylsulfat und
25	840	g	destilliertem Wasser.

Anschließend wird noch weitere 2 Stunden bei 80°C ge-
rührt, danach wird auf Raumtemperatur abgekühlt und fil-
triert. Man erhält eine koagulatfreie Dispersion.

- 30 Feststoffgehalt ca. 30 %, pH-Wert: 7,3, Viskosität 2 mPa.s.

Beispiel 2Herstellung einer oxirangruppenhaltigen Dispersion

5 In einem Polymerisationsgefäß, ausgestattet mit Rückflußkühler, Rührer und Thermostat wird eine Lösung aus

50 g Phosphatpufferlösung pH 7,0 (Titrisol, Merck)

0,3 g Natriumlaurylsulfat

10 0,3 g Natriumsalz der 4,4'-Azobis-(4-cyanovaleriansäure)

515 g destilliertem Wasser vorgelegt und auf

80°C erwärmt.

15 In diese Vorlage tropft man ebenfalls bei 80°C innerhalb von 4 Stunden eine Emulsion, hergestellt aus:

300 g Methylmethacrylat

210 g Butylacrylat

20 90 g Glycidylmethacrylat

2 g Natriumsalz der 4,4'-Azobis-(4-cyanovaleriansäure)

3 g Natriumlaurylsulfat und

25 840 g destilliertem Wasser.

Anschließend wird noch 90 Min. bei 80°C gerührt, danach wird auf Raumtemperatur abgekühlt und filtriert. Man erhält eine gut filtrierbare koagulatfreie Dispersion. Feststoffgehalt ca. 30 %, pH-Wert: 7,1, Viskosität 1 mPa.s.

30

Beispiel 3Herstellung einer oxirangruppenhaltigen Dispersion

5 In einem Polymerisationsgefäß, ausgestattet mit Rück-
flußkühler, Rührer und Thermostat wird eine Lösung
aus

6,5 g Natriumlaurylsulfat
10 0,6 g Natriumsalz der 4,4'-Azobis-(4-cyano-
valeriansäure)
10,0 g Phosphatpufferlösung pH 7,0 (Titrisol, Merck)
600,0 g destilliertem Wasser

15 vorgelegt und auf 80°C erwärmt.
In diese Vorlage tropft man bei 80°C innerhalb von
3 Std. eine Emulsion, hergestellt aus:

18 g Methacrylamid
20 11 g Äthylenglykoldimethacrylat
150 g Methylmethacrylat
180 g Glycidylmethacrylat
1,5 g Natriumlaurylsulfat
2,0 g Natriumsalz der 4,4'-Azobis-(4-cyano-
25 valeriansäure) und
900 g destilliertem Wasser.

Anschließend wird noch weitere 30 Min. bei 80°C gerührt,
danach wird auf Raumtemperatur abgekühlt und filtriert.
30 Man erhält eine gut filtrierbare, koagulatfreie Dispersion,
Feststoffgehalt: 19,4 %, pH-Wert: 7,7, Viskosität 2 mPa.s.

Beispiel 4Herstellung einer oxirangruppenhaltigen Dispersion

- 5 Man verfährt wie in Beispiel 3, dosiert jedoch eine Emulsion mit veränderter Monomierzusammensetzung zu.

Monomierzusammensetzung:

- 10 18 g Methacrylamid
36 g Äthylenglykoldimethacrylat
125 g Methylmethacrylat
180 g Glycidylmethacrylat

- 15 Hilfsstoffe, Polymerisationsdauer und Polymerisationstemperatur wie in Beispiel 3 beschrieben.

Es resultiert eine gut filtrierbare, koagulatfreie Dispersion.

- 20 Feststoffgehalt: 19,7 %, pH-Wert: 7,6, Viskosität: 1 mPa.s.

25

30

Beispiel 5Immobilisierung des Enzyms Ribonuclease durch Umsetzung mit Latex gemäß Beispiel 4

5 100 mg Ribonuclease ¹⁾ (aus Pankreas, Merck, Artikel Nr. 24570) werden in 1 ml 0,05 M Phosphatpuffer pH 7,5 gelöst. Zu dieser Lösung gibt man unter Rühren 1 ml der Dispersion gemäß Beispiel 2. Anschließend
10 wird 3 Tage bei 23°C stehengelassen.

Zur Aufarbeitung wird dreimal in jeweils 50 ml 1M NaCl-Lösung aufgeschlämmt und anschließend zentrifugiert. Danach wird dieser Waschvorgang noch zweimal mit 50 ml
15 0,05 M. Phosphatpuffer wiederholt.
Ausbeute: 1,1 g Feuchtsubstanz.

Die Ermittlung der Enzymaktivität erfolgte durch alkalimetrische Titration bei 37°C und pH 7,5, mit RNA als Substrat.

20

Verwendung	Feuchteinwaage [g]	Aktivität ^{*)} U/g Feuchteinwaage
25 1	1,10	101
2	1,75	54,8
3	1,74	51,0
4	1,68	55,0
5	1,71	51,9

30

^{*)} 1 U entspricht 1 µmol/min, gemessen anhand der Anfangsgeschwindigkeit

1) E.C. 2.7.7.16

Beispiel 6Immobilisierung des Enzyms Trypsin durch Umsetzung
mit dem Latex gemäß Beispiel 4

5

Man verfährt wie im Beispiel 5, verwendet jedoch
als Enzym 100 mg Trypsin²⁾ (vom Rind, Merck, Artikel
Nr. 24579).

10

Die Ermittlung der Enzymaktivität erfolgte durch
alkalimetrische Titration bei 37°C und pH 7,5 (BAEE) und
pH 8,0 (Casein).

15

Verwendung	Aktivität [U/g] ^{*)} (Substrat: BAEE)	Aktivität [U/g] ^{*)} (Substrat: Casein)
1	174	42,5
2	163	26,7
3	161	23,3
20 4	161	23,3

25

^{*)} Aktivitäten jeweils bezogen auf die Feuchteinwaage, 1 U
entspricht 1 µmol/min, gemessen anhand der Anfangsge-
schwindigkeit

BAEE = N^B-Benzoyl-L-argininethylesterhydrochlorid

2) E.C. 3.4.4.4

30

Beispiele 7 - 11Immobilisierung des Enzyms Trypsin durch Umsetzung
mit dem Latex gemäß Beispiel 4

5

Man verfährt wie im Beispiel 6, variiert jedoch das
Verhältnis Enzym/Latex.

10

Aktivität:

Beispiel Nr.	Einwaage ²⁾ Trypsin [mg]	Einwaage Latex-Feststoff [mg]	Verhältnis Trypsin/ Latex-Feststoff	Aktivität ^{*)} [U/g] (Substrat:Casein)
7	20	200	1 : 10	3,7
8	40	200	1 : 5	13,8
9	80	200	1 : 2,5	22,2
6	100	200	1 : 2	23,3
10	160	200	1 : 1,25	26,4
11	200	200	1 : 1	22,3

15

20

25

^{*)} Aktivität jeweils bei der 3. Verwendung

30

Beispiel 12Immobilisierung des Enzyms PC-Amidase durch
Umsetzung mit dem Latex gemäß Beispiel 4

5

Man verfährt wie im Beispiel 5, verwendet jedoch
als Enzym 100 mg Penicillin-Amidase (*Escherichia coli*).³⁾

10

Die Ermittlung der Enzymaktivität erfolgt durch
Messung bei 37°C und pH 7,8. (Substrat: Penicillin-
Kalium G).

Aktivitätsmessung

15

1. Verwendung	42,7 U/g Feuchteinwaage
2. Verwendung	42,0 U/g Feuchteinwaage
3. Verwendung	41,6 U/g Feuchteinwaage

20

Beispiel 13Immobilisierung des Enzyms Ribonuclease durch Um-
setzung mit dem Latex gemäß Beispiel 3

25

Man verfährt wie im Beispiel 5, verwendet jedoch zur
Vernetzung des Enzyms den Latex gemäß Beispiel 3.

Aktivitätsmessung

30

1. Verwendung	68,5 U/g Feuchteinwaage
2. Verwendung	61,8 U/g Feuchteinwaage
3. Verwendung	61,8 U/g Feuchteinwaage
4. Verwendung	61,0 U/g Feuchteinwaage

3) E.C. 3.5.1.11

Beispiel 14

Fixierung des Enzyms RNase an ein durch Tränken mit
einer oxirangruppenhaltigen Dispersion aktiviertes
Papier

100 ml der Dispersion gemäß Beispiel 1 werden mit
500 ml destilliertem Wasser verdünnt. Mit dieser etwa
5 %igen Dispersion tränkt man ein ca. 100 cm² großes
Stück Papier (Whatman Medium flow). Anschließend wird
abgepreßt, eine Stunde bei Raumtemperatur belassen und
danach 30 min bei 80°C getrocknet. Das so behandelte
Papier enthält 20 g Polymerisatfeststoff pro m².
Bei Temperaturen unter -15°C kann dieses reaktive Papier
wenigstens 12 Monate gelagert werden.

Fixierung des Enzyms Ribonuclease

100 mg Ribonuclease¹⁾ werden in 2 ml 0,05 M Phosphat-
puffer (pH 7,5) gelöst. Mit dieser Lösung tränkt man das
mit dem oxirangruppenhaltigen Latex behandelte Papier und
läßt anschließend 72 Std. bei 23°C stehen. Danach wird
abgepreßt und dreimal mit 1n NaCl- und zweimal mit 0,05 M
Phosphatpufferlösung (pH 7,5) gewaschen.

Aktivitätsmessung (3. Verwendung): 2 U/g. Feuchtpapier
Bedingungen: 37°C, pH 7,5

¹⁾ (aus Pankreas, Merck, Artikel Nr. 24570)

Beispiel 15

Man verfährt wie im Beispiel 14, verwendet jedoch
das Enzym Trypsin. ²⁾

5

Aktivitätsmessung (3. Verwendung): ^{*)} 2,5 U/g Feuchtpapier

*) Substrat BAEE, pH 7,5, 37°C

10

Beispiel 16

Man verfährt wie im Beispiel 14, verwendet jedoch zum
Tränken des Papiers eine konzentriertere Dispersion
(100 ml der Dispersion gemäß Beispiel 1, verdünnt mit
200 ml destilliertem Wasser).

15

Trocknungsbedingungen: 12 Std. bei 25°C im Umlufttrocken-
schrank.

Polymerisatfeststoff/m² Papier = 33 g

20

Anschließend Fixierung des Enzyms Trypsin wie im Bei-
spiel 14 für das Enzym RNase beschrieben.

Aktivitätsmessung (3. Verwendung): 4,1 U/g Feuchtpapier.
Substrat BAEE, pH 7,5, 37°C

25

Beispiel 17

Man verfährt wie im Beispiel 16, verwendet zur Tränkung
den Latex gemäß Beispiel 2 (Verdünnung wie im Beispiel 16:
100 ml Dispersion in 200 ml destilliertem Wasser).

30

Polymerisatfeststoff/m² Papier = 27 g

Aktivitätsmessung (3. Verwendung): 7 U/g Feuchtpapier
Substrat BAEE, pH 7,5, 37°C

Beispiel 18

- 100 ml der Dispersion gemäß Beispiel 1 wird mit
200 ml destilliertem Wasser verdünnt, damit wird
5 eine Watte (Dicke 2 mm) besprüht, anschließend wird
12 Std. bei Raumtemperatur getrocknet.
Polymerisatfeststoff/m² Watte = 39 g
Aktivitätsmessung (3. Verwendung, Enzym RNase) = ¹⁾
2,1 U/g Feuchtwatte
10 Messbedingungen wie im Beispiel 14 beschrieben.

Beispiel 19

- 15 Man verfährt wie im Beispiel 14: Tränkung des Papiers
mit der oxirangruppenhaltigen Dispersion gemäß Bei-
spiel 1, Trocknung, Umsetzung mit dem Enzym Ribonuclease. ¹⁾
Das 72 Std. mit Enzymlösung behandelte Papier wird jedoch
ohne weitere Reinigung 24 Std. zusätzlich mit einer
20 0,005 %igen Lösung von 4^t-Amino-azobenzol-2-carbonsäure
in 0,05 M. Phosphatpufferlösung behandelt, anschließend
wird dreimal mit 1n NaCl- und zweimal mit 0,05 M
Phosphatpufferlösung (pH 7,5) gewaschen.
Zur Verwendung als Indikator (Substratnachweis) wird das
25 Papier noch zweimal mit 1n NaCl-Lösung gewaschen.
Bei Anwesenheit eines Substrats zeigt das Papier Farb-
umschlag von gelb nach orange.
Aktivität des Teststreifens bei pH 7,5 (37°C) : 1,5 U/g
Feuchtgewicht

30

Beispiel 20

Immobilisierung von *Escherichia coli* durch Umsetzung
mit dem Latex gemäß Beispiel 4.

5

Zu 10 ml einer 20 %igen Zellsuspension von *Escherichia coli* in physiologischer Kochsalzlösung werden 10 ml der Dispersion gemäß Beispiel 4 gegeben. Anschließend läßt man 24 Stunden bei Raumtemperatur stehen.

10

Es resultiert ein Netzwerk, das sich gut durch Zentrifugation reinigen läßt.

Aktivitäten

15

Substrat: Penicillin-Kalium (2 %ig), 37°C

	Verwendung	Aktivität [U/g Feuchtkatalysator]
20	1	118
	2	66
	3	55
	4	53

25

Damit sind die Aktivitäten des immobilisierten *Escherichia coli* durchaus vergleichbar mit denen des nicht immobilisierten *Escherichia coli*:

	Verwendung	Aktivität
30	1	128,5
	2	132,5
	3	132,5

Oberflächenreiche Systeme zur Fixierung von
nucleophile Gruppen enthaltenden Substraten

Patentansprüche

5

1. Oberflächenreiche Systeme mit reaktiven Einheiten zur Bindung von nucleophilen Gruppen enthaltenden Substraten,

10

dadurch gekennzeichnet,

15

daß die reaktiven Einheiten zur Bindung der die nucleophilen Gruppen enthaltenden Substrate Bestandteil eines Polymerlatex sind, der selbst zu einem oberflächenreichen System aggregiert und/oder an einem oberflächenreichen Trägermaterial fixiert ist.

20

2. Oberflächenreiche Systeme gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Aggregation der Polymerlatices zu einem oberflächenreichen System durch Sprühtrocknung unterhalb der minimalen Filmbildungstemperatur (MFT) des individuellen Polymerlatex vorgenommen wird.

25

3. Oberflächenreiche Systeme gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Aggregation der Polymerlatices zu einem oberflächenreichen System durch Gefriertrocknung erfolgt.

30

- 5 4. Oberflächenreiche Systeme gemäß Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß die Aggregation der
Polymerlatices zu einem oberflächenreichen System
durch thermische Koagulation, Ausgefrieren oder
durch Fällen mit Elektrolyten oder Lösungsmitteln
erfolgt.
- 10 5. Oberflächenreiche Systeme gemäß Anspruch 1, dadurch
gekennzeichnet, daß die Aggregation der Polymer-
latices zu einem oberflächenreichen System durch Aus-
fällen mit dem die nucleophilen Gruppen enthaltenden
Substrat erfolgt.
- 15 6. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1 und
5, dadurch gekennzeichnet, daß das die nucleophilen
Gruppen enthaltende Substrat Protein-Charakter hat.
- 20 7. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1 und
5, dadurch gekennzeichnet, daß die zum Ausfällen be-
nutzten, nucleophilen Gruppen enthaltenden Substrate
aus funktional und/oder morphologisch definierten,
biologisch wirksamen Einheiten bestehen.
- 25 8. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1, 5,
6 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß das die nucleo-
philen Gruppen enthaltende Substrat ein Enzym ist.
- 30 9. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1 und
8, dadurch gekennzeichnet, daß das die nucleophilen
Gruppen enthaltende Substrat aus mehreren, unterscheid-
baren Enzymen besteht.

10. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß die zum Ausfällen benutzte, nucleophile Gruppen enthaltenden Substrate aus Mikroorganismen oder deren Untereinheiten, Viren, eukariotischen oder prokariotischen Zellen und/oder deren Untereinheiten oder Zellhybriden oder Zellorganellen, wie Mitochondrien, Mikrosomen, Membranteile, Zellkerne oder deren Untereinheiten, bestehen.
11. Oberflächenreiche Systeme gemäß Anspruch 1 und 2 - 4, dadurch gekennzeichnet, daß bei der Aggregation der Polymerlatices zu einem oberflächenreichen Gebilde ein oder mehrere Arten der die nucleophilen Gruppen enthaltenden Substrate bereits anwesend sind.
12. Oberflächenreiche Systeme gemäß Anspruch 1, dadurch hergestellt, daß auf ein oberflächenreiches Trägermaterial eine Latex-Dispersion aufgebracht wird, deren Latexteilchen als Bestandteile reaktive Gruppen zur Bindung der die nucleophilen Gruppen enthaltenden Substrate aufweisen und der Latex am Trägermaterial fixiert wird.
13. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1 und 12, dadurch gekennzeichnet, daß der auf das oberflächenreiche Trägermaterial aufzubringende Latex filmbildend ist und durch einfaches Auftrocknen auf dem oberflächenreichen Trägermaterial fixiert wird.

14. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen
1 und 12, dadurch gekennzeichnet, daß der zu
fixierende Latex an sich nicht filmbildend ist und
durch Beifügung geringfügiger Mengen eines film-
bildenden Latex oder mittels der reaktiven Einheiten
bzw. weiterer funktioneller Gruppen oder reaktiver
Verbindungen am Trägermaterial fixiert wird.
15. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1 und
12, dadurch gekennzeichnet, daß das oberflächenreiche
Trägermaterial im wesentlichen aus organischem Ma-
terial aufgebaut ist.
16. Oberflächenreiche Systeme gemäß Anspruch 15, dadurch
gekennzeichnet, daß das organische Material aus Vinyl-
polymeren, Kohlehydraten, Proteinen, Polyaminosäuren,
Polyamiden oder Polyestern aufgebaut ist.
17. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 12, 15
und 16, dadurch gekennzeichnet, daß das oberflächen-
reiche Trägermaterial ein Faservlies darstellt.
18. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 12,
15 und 16, dadurch gekennzeichnet, daß das oberflächen-
reiche Trägermaterial eine Watte darstellt.
19. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 12,
15 und 16, dadurch gekennzeichnet, daß das oberflächen-
reiche Trägermaterial geschäumt ist.

20. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1 und 12, dadurch gekennzeichnet, daß das oberflächenreiche Trägermaterial aus anorganischem Material aufgebaut ist.
- 5 21. Oberflächenreiche Systeme gemäß Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß das anorganische Trägermaterial in Vliesform oder in Form eines porösen Körpers vorliegt.
- 10 22. Oberflächenreiche Systeme gemäß Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß das anorganische Material aus Siliciumdioxid bzw. Silikaten, Glas, Aluminiumoxid und/oder andere Metalloxiden, Tonen, Sand, Keramik, Kohle, nicht-rostendem Stahl, besteht.
- 15 23. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß der Polymerlatex aus radikalisch polymerisierbaren Monomeren aufgebaut ist.
- 20 24. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1 und 23, dadurch gekennzeichnet, daß der Polymerlatex auf Basis von Acrylsäure- und/oder Methacrylsäurederivaten und/oder Styrol und/oder Vinylacetat aufgebaut ist.
- 25 25. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß die reaktiven Einheiten als Bestandteile eines Polymerlatex solche sind, die mit den nucleophilen Gruppen enthaltenden Substraten in wäßriger Lösung und im pH-Bereich von 5 - 10 unter Ausbildung einer kovalenten Bindung reagieren.
- 30

26. Oberflächenreiche Systeme gemäß Anspruch 25,
dadurch gekennzeichnet, daß die reaktiven Ein-
heiten Oxiran-, Keto-, Formyl-, Sulfonsäure-
halogenid-, Thioisocyanatgruppen, aktivierte
Carbonsäureester und/oder
Carbonsäureanhydride oder aktivierte Doppel-
bindungen darstellen.
27. Oberflächenreiche Systeme gemäß den Ansprüchen 1
bis 26, dadurch gekennzeichnet, daß sie zusätzlich
noch einen, gegebenenfalls pH- oder redoxsen-
siblen Farbstoff enthalten.
28. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß
den Ansprüchen 1 bis 4 und 12, dadurch gekennzeichnet,
daß man die am Trägermaterial fixierten Latices mit
einem nucleophilen Gruppen enthaltenden Substrat um-
setzt.
29. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den
Ansprüchen 1 bis 4 und 13 bis 28 zur Fixierung von
funktional und/oder morphologisch definierten, bio-
logisch wirksamen Einheiten.
30. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den
Ansprüchen 1 bis 4 und 13 bis 29 zur Immobilisierung
von Proteinen.
31. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den
Ansprüchen 1 bis 4 und 13 bis 30 zur Bindung von
Enzymen.

32. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 4, 13 bis 30 zur Bindung von Blutproteinen und Blutfaktoren.
- 5 33. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß Anspruch 32, zur Bindung von Albumin, Immoglobulinen, Faktoren der Blutgerinnung, Zellmembranproteinen und Peptidhormonen.
- 10 34. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 4, 13 bis 30, zur Immobilisierung von hochmolekularen, biogenen Substraten.
- 15 35. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 4, 13 bis 30 und 34, zur Immobilisierung von mit Farbstoffen kovalent markierten, hochmolekularen, biogenen Substraten.
- 20 36. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 35, als Katalysatorsysteme.
37. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 36, als Biokatalysatoren, insbesondere mit Enzymwirkung.
- 25 38. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 35, als bioaffine Indikatoren, beispielsweise als immobilisierte Substrate.
39. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 35, als bioaffine Sorbentien.
- 30

49

40. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 und 13 bis 30, zur Entfernung von nucleophile Gruppen enthaltenden Verunreinigungen aus wäßrigen Medien.
- 5
41. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 4; zur Umsetzung mit bi- oder multifunktionellen Substanzen, die mindestens eine nucleophile Gruppe zur Fixierung am Latex und mindestens eine weitere funktionelle Gruppe aufweisen, die zur spezifischen Wechselwirkung mit in wäßrigem Medium befindlichen Substanzen oder funktionellen Einheiten geeignet ist.
- 10
42. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß Anspruch 41, dadurch gekennzeichnet, daß die weitere funktionelle Gruppe eine komplexierende Wirkung ausübt.
- 15
43. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 und 42, als stationäre Phase in der präparativen organischen Chemie.
- 20
44. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 und 43 zur Peptidsynthese.
- 25
45. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß den Ansprüchen 1, 5 bis 9 und 31, dadurch gekennzeichnet, daß das gebundene Enzym zu therapeutischen Zwecken verwendet wird.
- 30

0071704

50

46. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß
Anspruch 45 zur oralen Applikation.

5 47. Verwendung der oberflächenreichen Systeme gemäß
den Ansprüchen 45 und 46 zur Bindung von Proteasen
und/oder Lipasen und/oder Amylasen.

10

15

20

25

30